

بررسی تأثیر کودهای بیولوژیک و شیمیایی نیتروژن و فسفر بر عملکرد و میزان اسانس سرشاخه گلدار نعناع فلفلی در شرایط آب و هوایی اراک

امیررضا یونسی*، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد زراعت دانشگاه آزاد اسلامی اراک
سید یعقوب صادقیان مطهر، استاد مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر کرج
نورعلی ساجدی، عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی اراک
غلامرضا نادری بروجردی، عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی اراک

چکیده

این آزمایش به صورت فاکتوریل بر اساس طرح بلوک های کامل تصادفی با چهار تکرار و دو تیمار نیتروژن در سه سطح شامل کود بیولوژیک سوپرنیتروپلاس (حاوی باکتری های *Azospirillum*، کنترل کننده عوامل بیماری زای خاک زی (*Bacillus subtilis*) و باکتری محرک رشد (*Pseudomonas fluorescens*)، کود بیولوژیک نیتروکسین (حاوی غلظت های مختلف از باکتری های *Azospirillum/ Azotobacter*) و کود شیمیایی اوره (300 kg/ha) و نیز فسفر در سه سطح کود بیولوژیک بارور-۲ (حاوی باکتری های آزاد کننده فسفر) به همراه فسفات آمونیوم (125 kg/ha)، کود بیولوژیک فسفر و کود شیمیایی فسفات آمونیوم (250 kg/ha) طی سال زراعی ۱۳۸۷ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی اراک اجرا گردید. نتایج آزمایش نشان داد که کود بیولوژیک سوپرنیتروپلاس و سپس نیتروکسین سبب افزایش قابل توجه وزن تر و خشک سرشاخه و نیز درصد عملکرد اسانس سرشاخه گردید. تیمار تلفیقی کود بیولوژیک فسفر و فسفات آمونیوم بر مقدار صفت عملکرد اسانس سرشاخه و تیمار فسفر صفت میزان اسانس سرشاخه را تحت تأثیر معنی دار قرار دادند. تیمار تلفیقی سوپرنیتروپلاس و فسفر صفت وزن تر سرشاخه، را به طور معنی داری تحت تأثیر قرار داد. به طور کلی کودهای بیولوژیک حاوی باکتری های تثبیت کننده نیتروژن را می توان جانشین کودهای شیمیایی نمود و خصوصیات رشدی و عملکرد اسانس گیاه نعناع فلفلی را افزایش داد. در ضمن با مصرف باکتری های آزاد کننده فسفر می توان مصرف کود فسفر را تا ۵۰٪ کاهش داد بدون اینکه در خصوصیات رشدی و عملکرد اسانس کاهش معنی داری ایجاد شود. به نظر می رسد که یک برنامه زراعی دراز مدت که عوامل خاکی، کودی، محیطی و آبی را مورد توجه قرار می دهد در یک تناوب زراعی اصولی بتواند تأثیر بیشتری در افزایش عملکرد ماده مؤثره گیاهان دارویی از جمله نعناع فلفلی وجود داشته باشد. واژه های کلیدی: باکتری های آزاد کننده فسفر، باکتری های تثبیت کننده نیتروژن، عملکرد اسانس، نعناع فلفلی

* نویسنده مسئول: E-mail : Pepper_mint1387@yahoo.com

مقدمه

نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* L. گیاهی چند ساله و علفی متعلق به تیره نعناعیان است. برگ های این گیاه دارای ۱/۲ تا ۲/۵٪ اسانس است که ۳۰ تا ۷۰٪ آن را ترکیب منتول و استرهای منتول و بیش از ۴۰ ترکیب دیگر تشکیل می دهند (۴). امروزه در کشورهای مختلف جهان، متجاوز از ۷۰۰ تن اسانس در سال، از نعناع فلفلی تهیه می شود که این موضوع اهمیت و لزوم توسعه کشت آن در نقاط مختلف کره زمین را نشان می دهد (۱۳). تولید موفقیت آمیز محصولات گیاهی مستلزم خاک مناسب و وجود مقدار کافی از عناصر غذایی و قابل استفاده گیاه است. هرگاه یکی از این عناصر وجود نداشته باشد و یا اینکه مقدار آن مناسب نباشد رویش گیاه به طور طبیعی صورت نخواهد گرفت (۶). امروزه بکارگیری جانداران مفید خاک زی تحت عنوان کودهای بیولوژیک به عنوان طبیعی ترین و مطلوب ترین راه حل برای زنده و فعال نگه داشتن سیستم حیاتی خاک در اراضی کشاورزی، مطرح می باشد. عرضه مواد آلی به خاک، به دلیل پاسخگویی به مبرم تری نیاز آن، بزرگ ترین مزیت این قبیل کودهاست. علاوه بر این، تأمین عناصر غذایی به صورتی کاملاً متناسب با تغذیه طبیعی گیاهان، کمک به تنوع زیستی، تشدید فعالیتهای حیاتی، بهبود کیفیت و حفظ سلامت محیط زیست از مهم ترین مزایای کودهای بیولوژیک محسوب می شوند (۸).

کاربرد کودهای زیستی به ویژه باکتری های محرک رشد گیاه مهم ترین راهبرد در مدیریت تلفیقی تغذیه گیاهی برای سیستم کشاورزی پایدار با نهاده کافی به صورت تلفیق مصرف کودهای شیمیایی با کاربرد باکتری های مذکور می باشد. باکتری های جنس آزتوباکتر، آزوسپیریلیوم و سودوموناس از مهم ترین باکتری های رشد گیاه می باشند که علاوه بر تثبیت زیستی نیتروژن و محلول کردن فسفر خاک با تولید مقادیر قابل ملاحظه هورمون های تحریک کننده رشد به ویژه انواع اکسین، جیبرلین و سیتوکنین رشد و نمو عملکرد گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می دهند.

آزوسپیریلیوم با توان تثبیت زیستی نیتروژن، گسترش سطح ریشه، کمک به جذب بهینه آب و عناصر غذایی و تولید هورمون های رشد و برخی ویتامین ها، رشد گیاهان زراعی را تقویت می کند، که نتیجه آن به صورت افزایش عملکرد نمایان می گردد (۱۶ و ۲۰). باکتری های *psodomonas* و بالاخص سودوموناس های فلورسنت از مهم ترین اعضای جامعه میکروارگانیسم های ریزوسفری می باشند که مطالعات بسیار زیادی در خصوص اثرات مثبت ناشی از تلقیح آنها بر رشد گیاهان شده است.

آزتو باکتر از باکتری های آزادزی و تثبیت کننده نیتروژن هوا است، به طوری که این باکتری توانسته است ۲۰-۳۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن را از طریق تثبیت به خاک اضافه نماید، در عین حال بر حسب شرایط مختلف رشد بین ۷ تا ۳۹٪ افزایش عملکرد دانه غلات را در پی داشته است (۵). میکروارگانیسم های

حل کننده فسفات شامل باکتریهای حل کننده فسفات، که اصطلاحاً PSB^۱ نامیده می شوند (۱). مطالعات و تلاش اندکی در زمینه کاربرد کودهای بیولوژیک بر روی جذب عناصر غذایی پر مصرف در گیاهان دارویی و بویژه نعناع فلفلی انجام شده است. کابلو (۲۰۰۵) تأثیر تیمارهای کودی مختلف را بر روی نعناع فلفلی را بررسی کرد. نتایج این آزمایش نشان داد که عملکرد اسانس در تیمارهای ورمی کمپوست، کود گاوی و ترکیب *Azospirillum sp.* و *Azotobacter sp.* در مقایسه با کودهای شیمیایی به عنوان شاهد برابری می کند. در گیاه *Mentha arvensis* L. نیز کاربرد *Azospirillum sp.* و *Azotobacter sp.* به صورت مخلوط، عملکرد اسانسی معادل ۱۲۵ کیلوگرم در هکتار حاصل شد که معادل ۸۵٪ عملکرد حاصل از کرت هایی بود که تحت تأثیر کود شیمیایی قرار گرفته بودند.

طبق نتایج بررسی های کوچکی و همکاران در خصوص تأثیر کودهای زیستی بر روی گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis*) در سال ۱۳۸۷، کاربرد این کودها تأثیری بر ارتفاع بوته نسبت به شاهد نداشت اما قطر بوته را به طور معنی داری تحت تأثیر قرار دادند به طوری که در تیمار کود سوپر نیتروپلاس بیشترین قطر بوته به دست آمد و پس از آن کاربرد باکتری سودوموناس فلورسنت و ترکیب مایکوریزا و سودوموناس فلورسنت منجر به افزایش قطر بوته گردیدند.

همچنین گزارش شد که کاربرد یک میکروارگانیزم حل کننده فسفات همراه با یک قارچ VAM در یک بستر حاوی پرلیت و ورمی کولیت، سبب بهبود معنی دار غلظت فسفر در گیاه دارویی نعناع شد سانچس و همکاران (۲۰۰۵) در آزمایشی در کشور کوبا تأثیر کودهای زیستی را بر روی دو گیاه دارویی بابونه و همیشه بهار مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج حاکی از این بود که کاربرد این کودها باعث افزایش عملکرد گل و کیفیت مواد مؤثره همیشه بهار می شود. در حالی که در بابونه باعث افزایش عملکرد گل شد اما بر کیفیت اسانس آن تأثیری نداشت.

فتما و همکاران (۲۰۰۶) در آزمایشی گلخانه ای در مصر بر روی گیاه دارویی مرزنجوش نشان دادند که کودهای زیستی شامل آزتوباکتر، آزوسپیریلیوم و باکتری های حل کننده فسفات روی شاخص رشدی و میزان اسانس اثرات قابل توجهی دارد

درزی و همکاران (۱۳۸۵) در آزمایش های خود گزارش کردند که کودهای زیستی بیوفسففات روی ارتفاع و عملکرد بیولوژیک رازیانه اثر معنی داری دارد همچنین اثرات متقابل بین مایکوریزا و بیوفسففات بر روی وزن هزار دانه معنی دار بود. فلاحی و همکاران در آزمایشی تأثیر کودهای زیستی روی بابونه آلمانی را در سال ۱۳۸۸ مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که تعداد شاخه اصلی در تیمار باکتری حل کننده فسفات به مراتب بیشتر از سایر تیمارها بود ولی بین تیمار کود زیستی نیتروکسین + باکتری حل کننده فسفات با شاهد تفاوت معنی داری مشاهده نشد. همچنین نتایج نشان داد که تیمارهای کود

^۱ Phosphorus Solubilizing Bacteria.

زیستی نیتروکسین و باکتری حل کننده فسفات به نحو قابل توجهی بر عملکرد گل تر و خشک مؤثر بودند ولی بین این دو تیمار تفاوت معنی داری ملاحظه نشد. بر خلاف انتظار عملکرد گل تر و خشک در تیمار نیتروکسین+ باکتری حل کننده فسفات در کمترین مقدار در بین تیمارهای آزمایش بود به طوری که در سطح پایین تری از شاهد قرار گرفت.

به دلیل اینکه اطلاعات کافی در زمینه زراعت گیاهان دارویی از جمله نعنای فلفلی در منطقه در دست نیست و نیز اثرات کودهای زیستی بر این گیاهان مورد بررسی قرار نگرفته است، در این تحقیق تأثیر کودهای زیستی بر روی صفات رویشی و میزان و عملکرد اسانس گیاه دارویی نعنای فلفلی مورد بررسی قرار گرفته است، تا در صورتی که بر صفات مذکور اثرات مثبت داشته باشند بتوان این کودها را جانشین کودهای شیمیایی نمود.

مواد و روش ها

این پژوهش در سال زراعی ۱۳۸۷ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک (۴ کیلومتر ۴ جاده اراک-خمین) در قطعه زمینی به مساحت ۳۳×۲۲ متر با مختصات، عرض جغرافیایی ۳۴ درجه و ۵ دقیقه و طول جغرافیایی ۴۹ درجه و ۴۲ دقیقه و ارتفاع ۱۷۵۷ متر از سطح دریا انجام شد. تیمارهای آزمایشی، دو تیمار هر کدام در سه سطح به صورت زیر بود:

کود نیتروژن (N) در سه سطح:

N₁: سوپر نیتروپلاس (بیولوژیک) ۲ لیتر در هکتار

N₂: نیتروکسین (بیولوژیک) ۲ لیتر در هکتار

N₃: اوره (شیمیایی) ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار

کود فسفر در سه سطح:

P₁: بارور ۲ (بیولوژیک فسفر) ۱۰۰ گرم در هکتار + ۱/۲ فسفات آمونیوم (شیمیایی) ۱۲۵ کیلوگرم در هکتار

P₂: بارور ۲ (بیولوژیک فسفر) ۱۰۰ گرم در هکتار

P₃: فسفات آمونیوم (شیمیایی) ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار

کلیه تیمارهای کودی اول اردیبهشت در عصر یک روز ابری اعمال شدند. در این زمان گیاهان در مراحل اولیه رشد رویشی بودند و ارتفاع آنها حدود ۵ سانتی متر بود. کودهای اوره و فسفات آمونیوم در شیاری به عمق ۱۰ سانتی متر با فاصله ۸ سانتی متر در موازات ردیف کشت قرار گرفت. سپس روی آنها با خاک پوشیده شد. سه کود نیتروکسین (۲ لیتر در هکتار)، سوپر نیترو پلاس (۲ لیتر در هکتار) و بارور ۲ (۱۰۰ گرم در هکتار) را هر کدام در ۱۵۰ لیتر آب حل کرده و برای هر ردیف کشت ۱ لیتر از این محلول به فاصله کمی از گیاهان به موازات خطوط کشت اعمال شد.

پس از اعمال تیمارها بلافاصله آبیاری انجام شد. دو مرحله آبیاری نیز به فاصله دو روز از اعمال تیمارها انجام شد. این عمل جهت افزایش جذب توسط گیاه و افزایش فعالیت باکتری ها صورت گرفت. نمونه برداری در اواسط گلدهی گیاه انجام شد. برای نمونه برداری از هر کرت از دو ردیف وسط، ۱۵ نمونه، پس از حذف اولین بوته هر ردیف توسط قیچی باغبانی و با دست از ۶ سانتی متری سطح خاک صورت گرفت. گیاهان بلافاصله پس از برداشت به سایه منتقل و پس از توزین و اندازه گیری های مربوط، در کف سالن به دور از تابش نور خورشید در هوای آزاد خشک شدند. جهت یکنواختی خشک شدن گیاهان در زمان مناسب زیر و رو شدند.

پس از برداشت نمونه ها برگ ها و سرشاخه های آنها را جدا کرده و ساقه، سرشاخه و برگ، جداگانه وزن شدند و وزن تر هر یک مشخص شد. سپس به مدت ۷۲ ساعت درون آون با دمای ۷۵ درجه قرار داده شدند. پس از خشک شدن نمونه ها، ساقه، سرشاخه و برگ مجدداً توزین شدند. وزن بیوماس خشک از مجموعه وزن خشک برگ، ساقه و سرشاخه حاصل شد. اعداد حاصل از توزین توسط ضریب تصحیح شدند. بدین ترتیب وزن تر و خشک برگ، وزن تر و خشک سرشاخه و وزن بیوماس تر و خشک در یک متر مربع محاسبه شد.

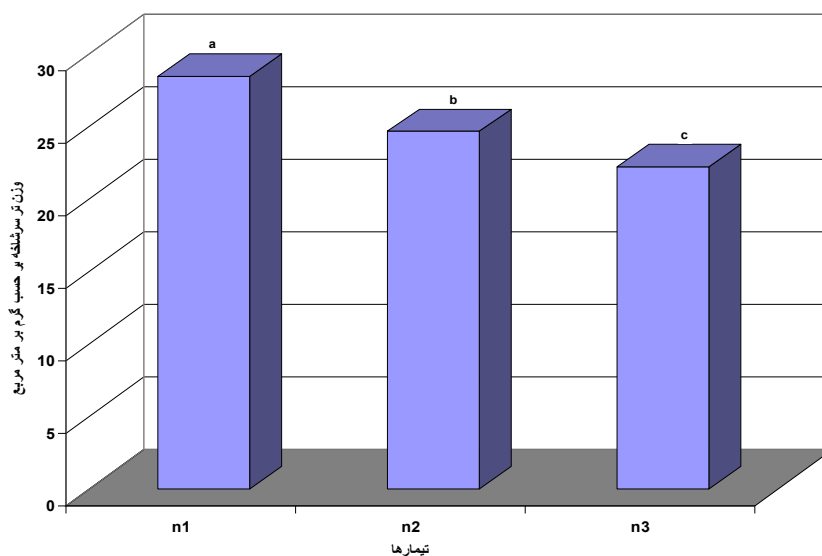
برای اندازه گیری میزان اسانس سرشاخه از هر کرت مقدار ۱۰۰ گرم سرشاخه خشک شده را پودر کرده و اسانس گیری انجام شد. میزان اسانس نمونه های حاصل را در وزن مخصوص اسانس ضرب کرده و بدین ترتیب این صفت اندازه گیری شد. همچنین عملکرد اسانس سرشاخه از حاصل ضرب میزان ماده خشک سرشاخه در درصد اسانس سرشاخه برای هر واحد آزمایشی محاسبه گردید.

اسانس گیری توسط روش تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر انجام شد. اسانس ها پس از جداسازی از عرق گیاه و اندازه گیری میزان دقیق آنها درون شیشه های تیره رنگ در بسته در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. کلیه داده های حاصل از نمونه برداری ها، توسط نرم افزارهای SAS و MSTAT-C تجزیه و تحلیل گردید و سپس مقایسه میانگین ها با کمک آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ صورت گرفت. نمودارها نیز توسط نرم افزار Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

وزن تر سرشاخه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفت وزن تر سرشاخه، (جدول ۱) نشان می دهد که عامل نیتروژن (N1) با میانگین ۱۱۸/۱۱ در سطح احتمال ۱٪ معنی دار شده است. از میان سه سطح تیمار کودی نیتروژن، سطح اول N1 (کود زیستی سوپر نیترو پلاس به مقدار ۲ لیتر در هکتار) دارای بیشترین میانگین به میزان ۲۸/۴۱ است (شکل ۱) و در گروه a قرار گرفت. سطح سوم کود نیتروژن (N3) کود شیمیایی اوره به مقدار ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار با میانگین ۲۲/۱۸ دارای کمترین میانگین است و در گروه بندی c قرار گرفته است. نتایج مقایسه میانگین این صفت بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در جدول (۲) نشان می دهد که بین سه سطح تیمار کود نیتروژن تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵٪ از لحاظ آماری وجود دارد.

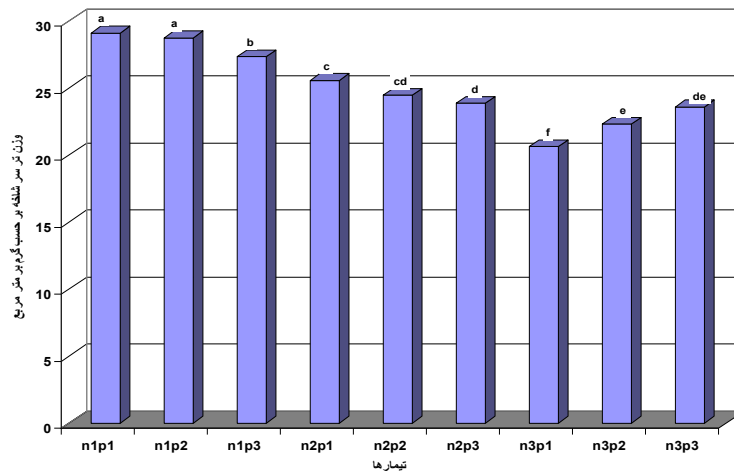


شکل ۱- مقایسه میانگین نیتروژن و تأثیر آن بر وزن تر سرشاخه

عامل فسفر (P) تحت تأثیر سطوح کود فسفر قرار نگرفته است.

اثر متقابل بین فسفر و نیتروژن در سطح احتمال ۵٪ معنی دار شده است. این ترکیب با میانگین ۷/۵۳ با بقیه تیمارهای ترکیبی در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی دار داشته است. تیمار N1P1 دارای بیشترین میانگین به مقدار ۲۹/۱۱ است که در گروه برتر قرار می گیرد (شکل ۲). در واقع در تیمار ۲ لیتر در هکتار سوپرنیتروپلاس، ۱۰۰ گرم در هکتار فسفر بیولوژیک و ۱۲۵ کیلوگرم در هکتار فسفات آمونیوم بیشترین میانگین و در تیمار N3P2، کود شیمیایی اوره به مقدار ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار و کود زیستی فسفر بیولوژیک به مقدار ۱۰۰ گرم در هکتار کمترین میانگین به میزان ۲۲/۳۱ حاصل شده است که در گروه e

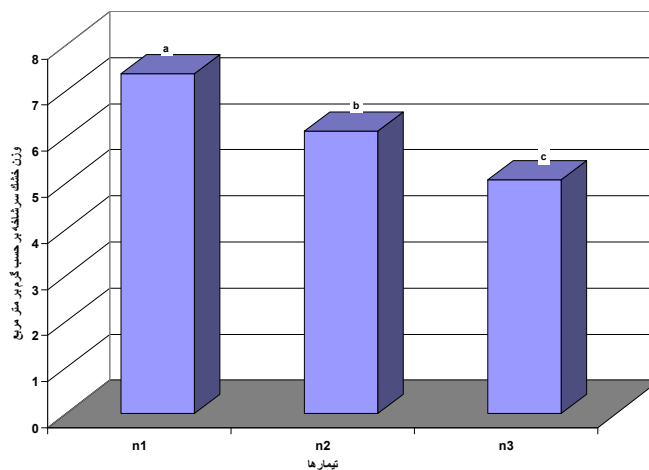
قرار گرفت.



شکل ۲- مقایسه میانگین نیتروژن و فسفر و اثر متقابل آن بر وزن تر سرشاخه

وزن خشک سرشاخه

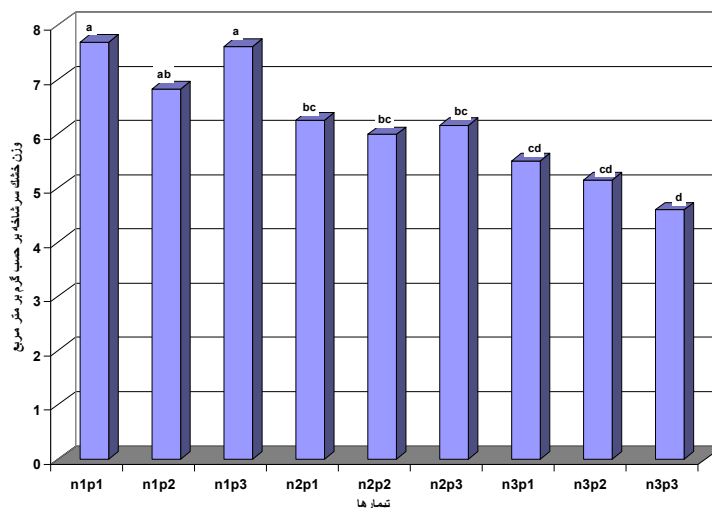
نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفت وزن خشک سرشاخه، (جدول ۱) نشان می دهد که عامل نیتروژن (N) با میانگین ۱۵/۸۳ در سطح احتمال ۱٪ معنی دار شده است. از میان سه سطح تیمار اعمال شده نیتروژن (شکل ۳)، سطح اول (N1) کود زیستی سوپر نیترو پلاس به مقدار ۲ لیتر در هکتار بیشترین میانگین را به میزان ۷/۳۷ نشان داد و در گروه برتر قرار گرفت. سطح سوم N: کود شیمیایی اوره به مقدار ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار با میانگین ۵/۰۷ دارای کمترین میانگین است و در گروه C قرار گرفت.



شکل ۳- مقایسه میانگین نیتروژن و تأثیر آن بر وزن خشک سرشاخه

نتایج مقایسه میانگین صفت وزن خشک سرشاخه بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن (جدول ۲) نشان داد که بین سه سطح تیمار کود نیتروژن تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵٪ از لحاظ آماری وجود دارد و سطح حداقل کودی نیتروژن بیشترین تاثیر را بر روی آن داشته است. عامل فسفر (P) تحت تأثیر سطوح کود فسفر قرار نگرفته است.

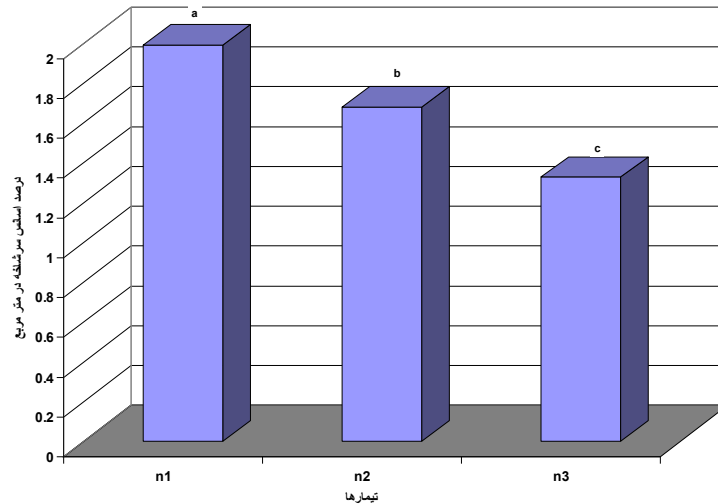
اثر متقابل فسفر و نیتروژن با میانگین ۰/۵۰٪ در سطح احتمال ۱٪ معنی دار شده است تیمار N1P1 دارای بیشترین میانگین به مقدار ۷/۶۸ است (شکل ۴) در گروه a قرار گرفت. در واقع در تیمار ۱ لیتر در هکتار سوپرنیتروپلاس، ۱ لیتر در هکتار بارور-۲ و ۱۲۵ کیلوگرم در هکتار فسفات آمونیوم بیشترین میانگین و در تیمار N3P3، کود شیمیایی اوره به مقدار ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار و کود شیمیایی فسفات آمونیوم به مقدار ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار کمترین میانگین به میزان ۴/۵۹ حاصل شده است که در گروه d جای گرفت.



شکل ۴- مقایسه میانگین نیتروژن و فسفر و اثر متقابل آن بر وزن خشک سرشاخه

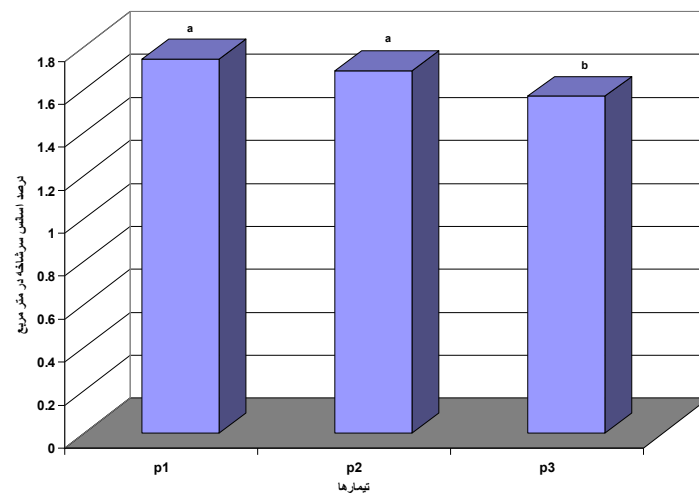
میزان اسانس سرشاخه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفت میزان اسانس سرشاخه (جدول ۱) نشان می دهد که تاثیر سطوح مختلف نیتروژن (N) در سطح احتمال ۱٪ معنی دار شده است. از میان سه تیمار اعمالی نیتروژن، سطح اول (N1) یعنی کود زیستی سوپر نیترو پلاس به میزان ۲ لیتر در هکتار با میانگین ۱/۹۹٪ دارای بیشترین میانگین است که در گروه برتر قرار گرفته است. کمترین میانگین نیز به میزان ۱/۳۲٪ به تیمار N3 (کود شیمیایی اوره به مقدار ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار) اختصاص دارد که در گروه c قرار گرفته است (شکل ۵).



شکل ۵- مقایسه میانگین نیتروژن و تأثیر آن بر درصد اسانس سرشاخه

بررسی مقایسه میانگین صفت میزان اسانس سرشاخه بر اساس آزمون دودامنه ای دانکن (جدول ۲) نشان می دهد که بین سه سطح تیمار کود نیتروژن اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵٪ وجود دارد. اثر فسفر (P) بر میزان اسانس سرشاخه در سطح احتمال ۱٪ معنی دار شده است. از میان سه سطح تیمار اعمال شده فسفر، سطح اول (P1) شامل کود زیستی فسفر بیولوژیک به مقدار ۱۰۰ گرم در هکتار به همراه کود شیمیایی فسفات آمونیوم به مقدار ۱۲۵ کیلوگرم در هکتار دارای میانگین ۱/۷۴٪ است که در گروه برتر قرار گرفت و بالاترین میانگین را به خود اختصاص داده است. کمترین میانگین نیز به میزان ۱/۵۶٪ به تیمار P3 (کود شیمیایی فسفات آمونیوم به مقدار ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار) اختصاص داشته است که در گروه b قرار گرفت (شکل ۶).

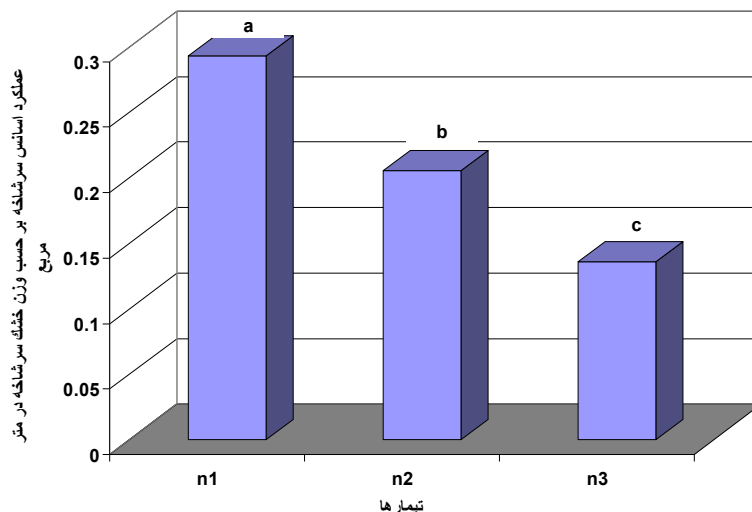


شکل ۶- مقایسه میانگین فسفر و تأثیر آن بر درصد اسانس سرشاخه

بررسی مقایسه میانگین صفت میزان اسانس سرشاخه توسط آزمون دانکن (جدول ۲) نشان می دهد که بین سطح اول و دوم با سطح سوم تیمار کود فسفر اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ وجود دارد. این صفت تحت تأثیر اثر متقابل نیتروژن و فسفر قرار ندارد و در نتیجه معنی دار نشده است.

عملکرد اسانس سرشاخه

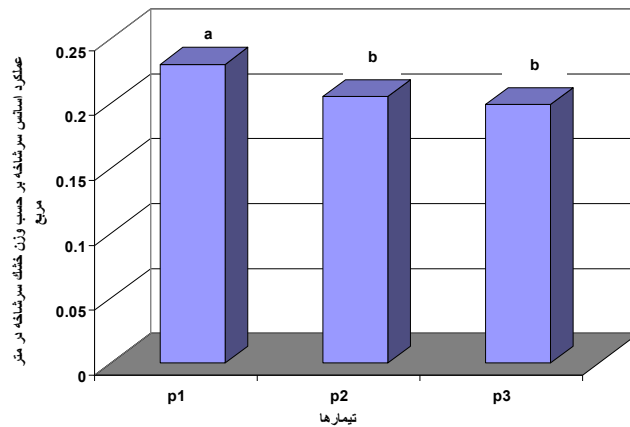
نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفت عملکرد اسانس سرشاخه نشان می دهد (جدول ۱) که تأثیر سطوح نیتروژن (N) بر عملکرد اسانس سرشاخه در سطح احتمال ۱٪ معنی دار شد. از میان سه تیمار اعمالی نیتروژن، سطح اول (N1) یعنی کود زیستی سوپر نیترو پلاس به میزان ۲ لیتر در هکتار با میانگین ۰/۲۹ درصد بر متر مربع دارای بیشترین میانگین بوده است که در گروه برتر قرار گرفت. کمترین میانگین نیز به میزان ۰/۱۳٪ بر متر مربع به تیمار (کود شیمیایی اوره به مقدار ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار) اختصاص دارد که در گروه c قرار گرفت. (شکل ۷).



شکل ۷- مقایسه میانگین نیتروژن و تأثیر آن بر عملکرد اسانس سرشاخه

بررسی مقایسه میانگین صفت عملکرد اسانس سرشاخه توسط آزمون چند دامنه ای دانکن (جدول ۲) نشان می دهد که بین سه سطح تیمار کود نیتروژن اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵٪ وجود دارد. اثر فسفر (P) بر عملکرد اسانس در سطح احتمال ۵٪ معنی دار شده است. از میان سه سطح تیمار اعمال شده فسفر، سطح اول یعنی P1 که شامل کود زیستی فسفر بیولوژیک به مقدار ۱۰۰ گرم در هکتار به همراه کود شیمیایی فسفات آمونیوم به مقدار ۱۲۵ کیلوگرم در هکتار دارای میانگین ۰/۲۲ است که در گروه برتر قرار گرفت و بیشترین میانگین را به خود اختصاص داده است. تیمار P3 (کود شیمیایی فسفات

آمونیم به مقدار ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار) نیز با میانگین ۰/۱۹ کمترین میانگین را داشته و در گروه بندی به گروه b تعلق گرفت.



شکل ۸- مقایسه میانگین فسفر و تأثیر آن بر عملکرد اسانس سرشاخه

جدول ۱: تجزیه واریانس وزن تر سرشاخه، وزن خشک سرشاخه، میزان اسانس سرشاخه، عملکرد اسانس سرشاخه

میانگین مربعات					منابع تغییرات
عملکرد اسانس سرشاخه	میزان اسانس سرشاخه	وزن خشک سرشاخه	وزن تر سرشاخه	درجه آزادی	
۰/۰۰۲	۰/۰۸	۰/۴	۲/۸۱	۳	تکرار
۰/۰۷۴**	۱/۳۲**	۱۵/۸۳**	۱۱۸/۱۱**	۲	نیترژن
۰/۰۰۳*	۰/۰۹*	۰/۷۸ ^{ns}	۰/۱۸ ^{ns}	۲	فسفر
۰/۰۰۰۹ ^{ns}	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۵**	۷/۵۳**	۴	نیترژن×فسفر
۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۶	۰/۵۱	۰/۸۴	۲۴	خطای آزمایش
۱۱/۸۳	۴/۸۲	۱۱/۶۱	۳/۶۵		ضریب تغییرات(%)

**، *، ns: به ترتیب اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱٪، ۵٪ و غیر معنی دار

بر اساس نتایج مقایسه میانگین این صفت بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن (جدول ۲) بین سطح اول با سطوح دوم و سوم تیمارهای کود فسفر اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵٪ وجود دارد. این صفت تحت تأثیر اثر متقابل نیترژن و فسفر قرار نیست چون اثر متقابل این دو کود معنی دار نشده است.

جدول ۲: مقایسه میانگین وزن تر سرشاخه، وزن خشک سرشاخه، میزان اسانس سرشاخه، عملکرد اسانس سرشاخه

میانگین				
تیمار	وزن تر سرشاخه	وزن خشک سرشاخه	میزان اسانس سرشاخه	عملکرد اسانس سرشاخه
(N) نیتروژن				
N1	۴۱/۲۸a	۷/۳۷a	۱/۹۹a	۰/۲۹a
N2	۲۴/۶۳b	۶/۱۲b	۱/۶۷b	۰/۲b
N3	۲۲/۱۸c	۵/۰۷c	۱/۳۲c	۰/۱۳c
(P) فسفر				
P1	۲۵/۱a	۶/۴۷a	۱/۷۴a	۰/۲۲a
P2	۲۵/۱۸a	۵/۹۸a	۱/۶۸a	۰/۲b
P3	۲۴/۹۴a	۶/۱۱a	۱/۵۶b	۰/۱۹b
اثر متقابل نیتروژن × فسفر				
P1N1	۲۹/۱۱a	۷/۶۸a	۲/۰۳a	۰/۳۱a
P1N2	۲۸/۷۶a	۶/۸۲ab	۱/۹۸a	۰/۲۶b
P ₁ N3	۲۷/۳۵b	۷/۶a	۱/۹۵ab	۰/۲۹ab
P ₂ N1	۲۵/۵۷c	۶/۲۵bc	۱/۷۹bc	۰/۲۲c
P2N2	۲۴/۴۶cd	۵/۹۸bc	۱/۶۷cd	۰/۲c
P2N3	۲۳/۸۷d	۶/۱۵bc	۱/۵۷de	۰/۱۹c
P ₃ N1	۲۰/۶۳f	۵/۴۹cd	۱/۳۹e	۰/۱۵d
P3N2	۲۲/۳۱e	۵/۱۴cd	۱/۴e	۰/۱۴d
P3N3	۲۳/۵۹de	۴/۵۹d	۱/۱۸f	۰/۱e

اعداد هر ستون که دارای حرف مشترک می باشند، تفاوت آماری ندارند

وزن تر و خشک سرشاخه

سرشاخه های گیاه نعنای فلفلی به عنوان اندام رویشی گیاه از اهمیت بالایی برخوردار هستند. سرشاخه ها متشکل از برگ و گل آذین هستند که منابع اصلی تولید اسانس در نعنای محسوب می شوند. در این بررسی بیشترین وزن تر سرشاخه به ترتیب مربوط به کود زیستی سوپر نیتروپلاس و سپس کود زیستی نیتروکسین بود. این افزایش تا حدود زیادی مربوط به افزایش وزن برگ است. می توان اظهار داشت که با افزایش وزن برگ وزن تر و خشک سرشاخه نیز افزایش می یابد.

نتایج این بررسی با نتایج تحقیق کوچکی و همکاران (۱۳۸۷) در یک راستا قززار دارد. این محققین در آزمایشی تأثیر کودهای سوپر نیتروپلاس و نیتروکسین را بر روی رشد و عملکرد گیاه دارویی زوفا مورد بررسی قرار دادند بالاترین وزن تر اندام هوایی در تیمار سوپر نیتروپلاس مشاهده شد. همچنین کاربرد

ریز موجودات منجر به افزایش وزن خشک اندام هوایی گیاه گردید و بیش از ۵۰٪ کاهش وزن خشک اندام هوایی در تیمار شاهد نسبت به کود سوپر نیتروپلاس که بالاترین وزن خشک اندام هوایی را تولید نمود، ملاحظه شد.

در این بررسی کود فسفر نتوانست سبب افزایش معنی دار وزن خشک و تر سرشاخه شود اما اثر متقابل فسفر و نیتروژن هم بر وزن تر و هم وزن خشک سرشاخه معنی دار شد. بیشترین وزن تر سرشاخه در تیمار نیتروکسین و بارور به همراه فسفات آمونیوم و پس از آن در تیمار نیتروکسین و بارور حاصل شد. دلیل این موضوع را می توان به اثر هم افزایی ریز سازوآرهای موجود در کودهای نیتروژن و فسفر نسبت داد. افزایش نیتروژن در محیط رشد موجب افزایش جذب اکسیژن و آزاد شدن گاز کربنیک و یا به عبارت دیگر افزایش تنفس می شود. این امر سبب ازدیاد جذب فعال فسفر می شود. همچنین وجود مقادیر بالای نیتروژن در خاک سبب توسعه سیستم ریشه ها شده و ظرفیت تبادل آن را با عناصر دیگر از جمله فسفر افزایش می دهد (۱۲).

میزان و عملکرد اسانس سرشاخه

افزایش معنی داری در میزان و عملکرد اسانس سرشاخه در ازای استفاده از کودهای بیولوژیک نیتروژنه سوپر نیتروپلاس، نیتروکسین و کود بیولوژیک فسفره بارور-۲ حاصل شد.

نیتروژن، فسفر و پتاسیم در رشد گیاه و بیوستنز اسانس نقش دارند. افزون بر تاثیر در فتوسنتز و تنفس برای تولید اسکلت های کربنی (Pyruvate) لازم جهت بیوستنز اسانس، در ساختار سه کوآنزیم مهم به نام های ATP، NADP/NADPH و کوآنزیم آ که در بیوستنز ترپنوئیدها نقش اساسی دارند، شرکت می کنند (Sell, 2003)

Franz همچنین معتقد است که میزان اسانس تا حد مشخصی با افزایش کود نیتروژنه و یا فسفره افزایش می یابد و با کاربرد کود پتاسه کاهش می یابد. بررسی اثر نیتروژن و فسفر بر روی میزان اسانس گیاه انیسون نشان داد که افزودن این کودها تأثیری بر درصد اسانس دانه در این گیاه نداشته است (۳).

مؤثرترین و پر مصرف ترین عناصر غذایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم هستند که از سه طریق بر روی گیاهان اسانس دار تأثیر می گذارند: تأثیر بر عملکرد دانه، تأثیر بر ترکیبات تشکیل دهنده اسانس و نهایتاً تأثیر بر مقدار اسانس (۲). میزان اسانس در گیاه رابطه مستقیمی با بیوستنز، متابولیسم و فعالیت زیستی گیاه دارد که اینها تابع شرایط اقلیمی محیط زیست می باشد (۱۴).

در تفسیر نتیجه حاصل از بهبود میزان اسانس و نیز عملکرد آن در اثر مصرف کودهای زیستی، می توان اظهار داشت از آنجایی که اسانس ها ترکیب هایی ترپنوئیدی هستند که واحدهای سازنده آنها (ایزوپرنوئیدها) مانند ایزوپنتنیل پیروفسفات (IPP) و دی متیل آلیل پیروفسفات (DMAPP)، نیاز مبرم

به ATP و NADPH دارند و با توجه به این موضوع حضور عناصری نظیر نیتروژن و فسفر برای تشکیل ترکیبهای اخیر ضروری می باشد (۲۴).

فسفر با تنظیم هورمون های گیاهی نقش مهمی در تقسیم سلولی دارد از طرفی نقش مهمی در تولید مواد فتوسنتزی داشته و سبب تولید انرژی در گیاه می شود. این امر سبب افزایش عملکرد زیستی، عملکرد سرشاخه و عملکرد اسانس سرشاخه می شود.

در همین خصوص در مطالعه ای که روی گیاه دارویی نعناع انجام گرفت، گوپتا و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که تلقیح گیاه نعناع با گونه ای قارچ VAM به نام *Glomus fasciculatum* به طور قابل ملاحظه ای میزان اسانس را افزایش داد. آنها دریافتند که همزیستی قارچ میکوریزا با ریشه گیاه نعناع از طریق افزایش جذب آب و عناصر پر مصرف در بهبود میزان اسانس مؤثر بوده است. در همین رابطه در تحقیق انجام شده بر روی گیاه دارویی گشنیز مشاهده شد که همزیستی میکوریزایی ریشه گیاه، سبب افزایش چشمگیر میزان اسانس در دانه می شود. احتشامی و همکاران در سال ۱۳۸۶ بیان کردند که تلقیح بذره های ذرت با میکوریزا و ریزجانداران حل کننده فسفات اثر مثبتی بر جذب عناصر غذایی و عملکرد دارد.

نتایج ریندرس و همکاران (۱۹۸۲) حاکی از آن است که ظرفیت پنجه زنی بالا همراه با ظرفیت جذب مواد غذایی پس از تلقیح با باکتری *Azotobacter brasilense* در گندم باعث افزایش عملکرد شد. وو و همکاران (۲۰۰۵) در آزمایشی بر روی گیاه ذرت گزارش کردند که مصرف کودهای زیستی علاوه بر بهبود وضعیت غذایی گیاه باعث بهبود خصوصیات خاک هم شد.

استفاده از کود زیستی نیتروژنی سوپر نیترو پلاس توانست تأثیر سبب افزایش معنی دار صفات مساحت برگ، تعداد برگ، وزن تر برگ، وزن خشک برگ، وزن تر سرشاخه، وزن خشک سرشاخه، قطر ساقه، تعداد انشعاب ساقه، ارتفاع گیاه، طول گل آذین، وزن تر کل، وزن خشک کل، میزان اسانس برگ، عملکرد اسانس برگ، میزان اسانس سرشاخه، عملکرد اسانس سرشاخه شود.

دیگر کود زیستی نیتروژنی، نیتروکسین نیز سبب افزایش معنی دار صفات، صفات مساحت برگ، تعداد برگ، وزن تر برگ، وزن خشک برگ، وزن تر سرشاخه، وزن خشک سرشاخه، قطر ساقه، تعداد انشعاب ساقه، ارتفاع گیاه، وزن تر کل، وزن خشک کل، میزان اسانس برگ، عملکرد اسانس برگ، میزان اسانس سرشاخه، عملکرد اسانس سرشاخه شد. تأثیر این کود در مقایسه با کود سوپر نیترو پلاس کمتر بود.

این نتایج حاکی از آن است که این کودها نیاز گیاه به عنصر حیاتی نیتروژن را به طور کامل تأمین کردند و می توان کودهای حاوی ریز سازواره های تثبیت نیتروژن را جانشین کودهای شیمیایی نیتروژنه کرد و در صفات رویشی و میزان و عملکرد اسانس افزایش ایجاد کرد.

استفاده از کود زیستی فسفر بیولوژیک در ترکیب با کود شیمیایی فسفات آمونیوم به میزان ۱۲۵ کیلوگرم

در هکتار به صورت تلفیقی توانست سبب افزایش معنی دار صفات، تعداد برگ، وزن تر برگ، وزن خشک برگ، طول گل آذین، وزن تر کل، وزن خشک کل، عملکرد اسانس برگ، میزان اسانس سرشاخه، عملکرد اسانس سرشاخه شود. در تیمار فسفر بیولوژیک صفات تعداد برگ، طول گل آذین، وزن تر و خشک بیوماس و نیز میزان اسانس سرشاخه معنی دار بود. در تیمار تلفیقی سوپرنیتروپلاس و فسفر بیولوژیک صفات وزن تر سرشاخه، قطر و تعداد انشعاب ساقه، طول گل آذین و ارتفاع بوته معنی دار بود.

این موضوع نشان می دهد که این باکتری ها کارایی بالایی دارند و می توان با استفاده از این منابع مصرف کودهای شیمیایی را به بیش از نصف کاهش داد.

منابع

- ۱- اسدی رحمانی، ه. و فلاح، ع. ۱۳۸۰. ضرورت تولید و ترویج کودها بیولوژیک محرک رشد گیاه. مجموعه مقالات ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک
- ۲- امیدبیگی، ر.، ۱۳۷۴. رهیافتهای تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد اول، انتشارات فکرروز، ۲۱۵ صفحه.
- ۳- ایران نژاد، ح. و رسام، ق. ۱۳۸۱. بررسی تاثیر مقادیر مختلف ازت و فسفر بر عملکرد و میزان اسانس دانه گیاه انیسون. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، سال ۹۳- نهم شماره اول صفحه ۱۰۱
- ۴- بهادری، س. ۱۳۸۵. معرفی مواد گزینشگر برای انتقال به گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita L.*), پایان نامه کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه تبریز، دانشکده کشاورزی
- ۵- خسروی، ه. ۱۳۸۰. کاربرد کودهای بیولوژیک در زراعت غلات (مجموعه مقالات) نشر آموزش کشاورزی. وزارت جهاد کشاورزی. ص ۱۹۴-۱۷۸.
- ۶- خواجه پور، م. ۱۳۷۱. اصول و مبانی زراعت، انتشارات جهاد دانشگاهی دانشگاه صنعتی اصفهان. ص ۱۰۷، ۱۰۸، ۱۱۲-۱۱۴.
- ۷- درزی، م. ت.، فلاوند، ا. و سفید کن، ف. ۱۳۸۵. بررسی کاربرد کودهای زیستی بر عملکرد و اجزا عملکرد گیاه دارویی رازیانه، فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، سال بیست و دوم، شماره ۴ (پیاپی ۳۴)، صفحه ۲۷۶.
- ۸- صالح راستین، ن. ۱۳۷۷. کودهای بیولوژیک. مجله خاک و آب، ویژه نامه کود های بیولوژیک، جلد ۱۲، شماره ۳ ص ۳۶-۱- موسسه تحقیقات خاک و آب، تهران، ایران.
- ۹- فلاحی، ج.، کوچکی، ع. و رضوانی مقدم، پ. ۱۳۸۸. بررسی تاثیر کودهای بیولوژیک بر عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla*). مجله پژوهش های زراعی ایران، جلد ۷، شماره ۱.
- ۱۰- کوچکی، ع.، تبریزی، ل. و قربانی، ر. ۱۳۸۷. ارزیابی اثر کودهای بیولوژیکی بر ویژگی های رشد، عملکرد و خصوصیات کیفی گیاه زوفا. مجله پژوهش های زراعی ایران، جلد ۶، شماره ۱
- ۱۱- ملکوتی، م. ج. ۱۳۷۹. اثرات مصرف متعادل کودها نقش عناصر ریز مغذی در بهبود کمی و کیفی محصولات کشاورزی و محیط زیست. خلاصه مقالات دومین همایش ملی استفاده بهینه از کود و سم در کشاورزی، ۲۶-۲۵

خرداد: ۵۲-۴۸.

۱۲- نیاکان، م.، خاوری نژاد، ر. و رضایی، م. ب. ۱۳۸۳. اثر نسبت‌های مختلف سه کود N، P و K بر صفات رویشی

نعناع. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۱۴۸: ۲۰-۱۳۱.

13- Aflatuni, A. 2005. The yield and essential oil content of mint (*Mentha spp.*) in Northern Ostrobothnia. Academic dissertation to be presented with the assent of the faculty of science, University of Oulu, 150 page.

14- Baser K. H. C. 1993. Essential oils of Anatolian labiatae. Acta Hort., No. 333, pp: 217

15- Cabello, M., Irrazabal, G., Bucinszky, A. M., Saparrat, M. and Schalamuk, S. 2005. Effect of an arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus mosseae*, and a rock-phosphate-solubilizing fungus, *Penicillium thomii*, on *Mentha piperita* growth in a soilless medium. Journal of Basic Microbiology, Volume 45 Issue 3, Pages 182 – 189, Published Online: 18 May 2005.16- Cohen, E., Okon, Y., Kigel, J., Nur, I. and Henis, Y, 1980. Increase in dry weight and total nitrogen content in *Zea mays* and *Setaria italica* associated with nitrogen-fixing *Azospirillum*. Plant Physiol. 66: 746-749.

17- De Freitas, J. R. and Germida, J. J. 1992. Growth promotion of winter wheat by fluorescent Pseudomonads under field condition. Soil Biol. Biochem. 24: 1137-1146.

18- Fatma, E. M., El-Zamik, I., Tomader, T., El-Hadidy, H. I. Abd El-Fattah, L. and Seham Salem, H. 2006. Efficiency of biofertilizers, organic and inorganic amendments application on growth and essential oil of marjoram (*Majorana hortensis* L.) plants grown in sandy and calcareous soil. Agric. Microbiology Dept., Faculty of Agric., Zagazig University and Soil Fertility and Microbiology Dept., Desert Research Center, Cairo, Egypt

19- Franz, Ch. 1983. Nutrient and water management for medicinal and aromatic plants. Acta Horticulturae, 132: 203-216.

20- Fulchieri, M. and Frioni, L. 1994. *Azospirillum* inoculation on maize: effect on yield in a field experiment in central Argentina. Soil Biol. Biochem. 26: 921-923.21- Gupta, M. L., Arun Prasad, Muni, R. and Sushil, K. 2002. Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions, Bioresource Technology Volume 81, Issue 1, January 2002, Pages 77-7922- Mahshwari, S. K., Sharma, R. K. and Gangrade, S. K. 2000. Performance of isabgol or blond psyllium (*Plantago ovata*) under different levels of nitrogen, phosphorus and biofertilizers in shallow black soil. Indian Journal of Agronomy. 45:443-446.

23- Quispel, A. 1988. Hellrigel and Wilfarth's discovery of nitrogen fixation hundred years ago. P 3-40 In Bothe, H. Nitrogen fixation: Hundreds years after. Proc. of 7th internat. Cong. N.Fix. Gustav Fischer, New York.

24- Reynders, L. and Vlassak, K. 1982. Use of *Azospirillum brasilense* as biofertilizer. Plant and Soil. 66: 217-223.

25- Rovira, A. D. and Davey, C. B. 1974. Biology of the rhizosphere. P. 152-204. In: Carson, E.W. (ed.). The plant root and its environment. Univ. Press of Virginia. Charlottesville.

26- Rupam Kapoor, Bhoopander Giri and Krishan G. Mukerji, 2002. *Glomus macrocarpum*: a potential bioinoculant to improve essential oil quality and concentration in Dill (*Anethum graveolens* L.) and Carum (*Trachyspermum ammi* (Linn.) Sprague) World Journal of Microbiology and Biotechnology Volume 18, Number 5 / July, 2002.27- Sanches Govin, E., Rodrigues Gonzales, H. and Carballo Guerra, C. 2005. Influencia de los abonos organicos y biofertilizantes en la calidad de las especies medicinales *calendula officinalis* L. y *Matricaria recutita* L. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 10(1):1.

28- Sell, C. S. 2003. A Fragrant Introduction to Terpenoid Chemistry. The Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Science Park, Milton Road, Cambridge, UK. 410 p.

29- Wu, S. C., Cao, Z. H., Li, Z. G., Cheung, K. C. and Wong, M. H. 2005. Effects of biofertilizers containing N-fixer, P and K solubilizer and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. Geoderma. 125:155-166.